Lane Medical Library
STANFORD UNIVERSITY
MAR
24
1938
LIBRARY

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität
Königsberg Pr. — Direktor Prof. Dr. K. Zipf.

Die Wirkung von Leberextrakten auf die experimentelle Ölsäure-Anämie des Kaninchens.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät der Albertus-Universität
Königsberg Pr.

Vorgelegt von
Lothar-Einhart Czwalina
Zahnarzt aus Gumbinnen.

Königsberg Pr. 1937.

Druck: Gumbinner Allgemeine Zeitung, Gumbinnen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153514_0137

I. Einleitung.

Typisch für das Blutbild der perniciösen Anämie ist das Auftreten unreifer Formen von Erythrocyten, sowie das Auftreten von Makro- und Megalocyten. Man muß daher annehmen, daß das unbekannte ätiologische Agens direkt auf das Knochenmark und seinen Regenerationstypus wirkt. Vermehrter Blutzerfall allein ist nicht imstande, diesen Regenerationstypus im Knochenmark hervorzurufen. Gleichwohl wäre es aber auch falsch, in der erhöhten Blutzerstörung die primäre Ursache der perniciösen Anämie zu sehen und die Eigenart der Blutveränderungen auf sie zurückzuführen. Naegeli hat Toxine für die schwere Knochenmarksschädigung verantwortlich gemacht und in der spezifisch-toxischen Knochenmarksschädigung das eigentliche auslösende Moment für die eigenartigen Blutveränderungen gesehen. Es fragt sich nur, ob der vermehrte Blutzerfall gleichfalls als eine direkte Wirkung der unbekannten Schädlichkeit auf die roten Blutzellen oder den blutzerstörenden reticulo-endothelialen Apparat aufzufassen ist, oder ob infolge Rückschlag in die embryonale Regenerationsform das Knochenmark minderwertige, den zerstörenden Kräften der Blutabbauorgane leichter anheimfallende Erythrocyten liefert.

Die Natur der exogenen oder endogenen Noxe ist vorläufig nicht bekannt. Mit großer Wahrscheinlichkeit handelt es sich um eine endogen gebildete Noxe. Möglicherweise spielt das Fehlen eines Schutzstoffes gegen endogen oder exogen gebildete Gifte eine Rolle.

Die allgemeinen Kennzeichen der Blutveränderung bei perniciöser Anämie sind folgende:

Die Zahl der Erythrocyten sinkt, meist sogar ganz beträchtlich. Ferner verändert sich ihre Form, deren häufigster Befund die Megalocytose oder Makrocytose als Ausdruck des

embryonalen Regenerationstypus ist. Außerdem finden sich folgende Degenerationsformen der roten Blutkörperchen:

1. Poikilocytose,
2. Anisocytose,
3. Polychromasie,

wie sie auch bei schweren sekundären Anämien zu finden sind.

Im allgemeinen sinkt bei der Perniciosa anfänglich auch die Zahl der Leukocyten; die Auszählung der Leukocyten im gefärbten Präparat ergibt gewöhnlich eine Vermehrung mononukleärer Elemente, besonders der Lymphocyten. Die Vermehrung ist aber eine nur scheinbare, bedingt durch die Verminderung der polynukleären Neutrophilen.

Der Hämoglobingehalt nimmt langsamer ab, als die Zahl der Erythrocyten sich vermindert. Infolgedessen steigt der Färbeindex. Finden wir z. B. 50 % Hämoglobin bei nur 2 Millionen Erythrocyten, so können wir mit Sicherheit sagen: Der Farbstoffgehalt des einzelnen Erythrocyten ist übernormal, der sogenannte Färbeindex ist höher als 1.

Die Bestimmung des Färbeindex ist deshalb wichtig, weil es außer der perniciösen Anämie keine häufiger auftretende Krankheit gibt, die das Symptom eines erhöhten Färbeindex zeigt.

Im Gegensatz zu der primären Anämie, wie es die Perniciosa ist, bei der der Färbeindex größer als 1 ist, stehen die sekundären Anämien, bei denen der Färbeindex kleiner als 1 ist.

Das Antiperniciosaprinzip selbst wirkt nur auf die Biermer'sche Erkrankung des Menschen. Beim Tier ist eine Erkrankung, die ein der menschlichen Perniciosa gleichendes Blutbild aufweist, nicht beobachtet worden. Die Forschung ist aber auf Tierversuche zwecks Auswertung von Leberpräparaten angewiesen. So hat es deshalb nicht an Versuchen gefehlt, künstlich mehr oder weniger perniciosaähnliche Anämien zu erzeugen, um die Wirkung der verschiedenen Leberpräparate vor ihrer klinischen Verwendung prüfen zu können. Die sogenannten hämolytisch sekundären Anämien, die Blutungsanämie, Phenylhydracin-Anämie, Toluylendiaminanämie und Ziegenmilchanämie haben sich zur Standardisierung von Leber-

präparaten als nicht geeignet erwiesen.[1]) Man mußte also völlig neue Wege gehen. Dabei sind folgende Anforderungen an eine Testanämie zu stellen:

1. Sie muß möglichst ein der Biermer'schen Erkrankung analoges Blutbild aufweisen.
2. Sie muß längere Zeit über konstant bleiben.
3. Sie muß auf Leberextrakte spezifisch ansprechen.

Bei der Biermer'schen Anämie fehlen einerseits im Blut die Zeichen der Regeneration, andererseits befindet sich das Knochenmark in einem Zustand gesteigerter Tätigkeit. Es ist hyperplastisch. Die Ursache hierfür ist nach heutiger Auffassung eine Knochenmarksperre. Die Regeneration an sich fehlt keineswegs, sie ist nur gestört. Das Blutbild ist charakterisiert durch eine Verminderung der Retikulocyten und der Leukocyten. Der Färbeindex ist erhöht. Die Leberzufuhr bewirkt eine vorübergehende Zunahme der Retikulocyten (sog. Retikulocytenkrise), sowie ein Ansteigen der Erythrocyten und des Hämoglobins. Unter den tierexperimentellen Anämien entspricht dem Morbus Biermer keine vollständig. Relativ große Aehnlichkeit weisen nur zwei auf:

1. die durch Saponin hervorgerufene Anämie,
2. die Anämie durch hochungesättigte Oelsäuren.

Letztere war Gegenstand unserer experimentellen Untersuchungen an Kaninchen.

II. Methodik.

Zur Beurteilung des Blutstatus wurden herangezogen:

1. die Bestimmung des Hämoglobingehaltes,
2. die Zählung der Erythrocyten und Leukocyten,
3. die Berechnung des Färbeindex,
4. die Auszählung der Retikulocyten.

Die Hämoglobinbestimmung geschieht mit dem „Sahli'schen Hämoglobinometer" in bekannter Weise. Der Färbeindex wurde wie üblich errechnet.

Die Erythrocyten- und Leukocytenzahlen wurden mit der Thoma-Zeiß'schen Zählkammer bestimmt.

Die Auszählung der Retikolocyten geschah in folgender Weise: 2 Teile Blut wurden mit einem Teil Brillantkresil-blaulösung*) vermischt, in ein mit Paraffin überzogenes Schälchen gebracht und 10 Minuten in eine feuchte Kammer gestellt. Dann wurde ein Ausstrich hergestellt. Nachdem dieser getrocknet war, wurde mit May-Grünwald's Farbstoff 5—6 Minuten gefärbt. Unter dem Mikroskop wurden nun 1000 Erythrocyten ausgezählt. Auf 1000 Erythrocyten kommen bei normalen Kaninchen im Durchschnitt 20—30 Retikulocyten. Dieses sind Erythrocyten, die netzartige Einschlüsse haben oder Granula enthalten. Unter der Einwirkung von Brillantkresylblau erhalten diese ein blaßblaues bis violettes Aussehen.

Nach Brinkmann und Szent-Györgyi[2]) werden die höheren gesättigten und ungesättigten Fettsäuren im Blut durch den Blutkalk als Ca-Seifen gebunden und inaktiviert. Da die Ca-Seifen der höheren mehrfach ungesättigten Fettsäuren capillaraktiv und hämolytisch sind, so konnte erwartet werden, daß Leinölsäure ein starkes intravitales Hämolytikum sei. Es ist auch erwiesen, daß ungesättigte Fettsäuren stärker hämolytisch wirken als die entsprechenden gesättigten Säuren. Zur Erzeugung einer Anämie wurde deshalb Acid. linolicum, ein Gemisch von Linol- und Linolensäure, verwendet.

Da die intravenöse Injektion von Acid. linolicum zu lokalen und allgemeinen Schädigungen führt, mußte die intramuskuläre Zufuhr gewählt werden. Acht Kaninchen wurden täglich 1—2 ccm Acid. linolicum intramuskulär injiziert. Das zur Kontrolle des Blutstatus erforderliche Blut wurde aus der Ohrvene gewonnen.

III. Ergebnisse.

Bei täglichen intramuskulären Injektionen von 1—2 ccm Acid. linolicum entwickelt sich in wenigen Tagen eine Anämie. Bald setzen auch Regenerationserscheinungen ein. Werden die Injektionen fortgeführt, so läßt die Regeneration zeitweise wieder nach, um dann wieder einzusetzen. Das rote Blutbild

*) 0,1 %ige Lösung von Brillantkresylblau in physiol. Kochsalzlösung

zeigt in diesem Stadium alle typischen Merkmale der perniziösen Anämie. Die Zahl der Erythrocyten ist vermindert, steigt anfangs als Ausdruck einer Knochenmarksreizung an, um später infolge Knochenmarksblockade abzufallen. Weniger stark ist die Abnahme des Hämoglobingehaltes. Der Färbeindex erfährt eine Zunahme. Die Leucocytenzahl zeigt kein charakteristisches Verhalten. Die Erythrocyten sind vielfach stark deformiert, es besteht Makrocytose und Poikilocytose. Megalocyten und Normoblasten treten auf, und auch die Polychromasie fehlt nicht. Die Zahl der Retikulocyten erfährt im ganzen eine Abnahme (s. Tabelle). Die Versuchstiere machen bald einen kranken Eindruck.

Die Ölsäureanämie des Kaninchens zeigt demnach ein ähnliches Blutbild wie die Biermer'sche Anämie des Menschen. Sie gehört nicht zu den sekundären Anämien, denn diese zeigen erhöhte Retikulocytenwerte. Es muß sich bei der Ölsäurenanämie um eine Anämie mit gestörter oder fehlender Neubildung handeln.

Die Injektionen der Leinölsäure wurden solange fortgesetzt, bis die Erythocythenzahlen auf etwa 50 % des Ausgangswertes gesunken waren. Dies war gewöhnlich nach etwa fünfwöchiger Behandlung der Fall.

Die Ölsäure-Anämie bleibt nach Absetzen der Injektionen längere Zeit konstant. Bei der Hälfte der Versuchstiere nahm die Anämie sogar noch zu und führte schließlich zum Tode.

Bei vier Versuchstieren wurde nach 12—14 Tagen, während derer die Blutwerte konstant blieben oder noch mehr absanken, eine Lebertherapie eingeleitet. An fünf aufeinander folgenden Tagen wurden je 2 ccm Hepatopson intramuskulär injiziert (Tabelle). Alle vier behandelten Tiere zeigten eine Besserung des Blutbildes. Nach 1—2 Tagen trat eine deutliche Retikulocytenkrise auf. Die Retikulocytenzahl, welche durchschnittlich 1—2 % betrug, nahm unter Lebensermunterung auf über das Doppelte zu, um dann wieder auf den Wert vor der Leberinjektion abzusinken. Man kann sich das so erklären, daß die vorhandene Knochenmarkssperre unter der Leberwirkung für kurze Zeit aufgehoben wurde. Die Erythrocytenzahlen stiegen, ähnlich der Retikulocytenzahl, und

sanken dann wieder langsam ab. Da die Erythrocyten stärker als das Hgb. anstiegen, sank der Färbeindex. Die Leukocytenwerte wurden nicht wesentlich durch Lebergaben beeinflußt. Nach weiteren 5 Tagen erreichte die Erythrocytenzahl erst ihren Höchststand, um dann allmählich innerhalb von 9 Tagen wieder abzusinken. Dies war aber nur bei dem Kaninchen, das ich als Beispiel anführe, der Fall:

Datum	Erythrocyten	Leukocyten	Hgb.	F. I.	Retikulocyten	Injekt.
						Leinöls.
29. 8.	5,11	5500	67	0,65	3,6 %	2 ccm
30. 8.—1. 9.						2,2,1,5 ccm
2. 9.	4,92	5200	65	0,66	1,8 %	1,5 ccm
3. 9.—5. 9.	4,30	4800	63	0,74	—	je 1,5 ccm
6. 9.—9. 9.	3,94	4600	60	0,75	1 %	je 1,5 ccm
10. 9.—11. 9.						—, 1,5 ccm
12. 9.	3,90	4500	59	0,75	1,5 %	1,5 ccm
13. 9.—15. 9.						je 1,5 ccm
16. 9.	4,20	3800	58	0,69	2 %	2 ccm
17. 9.						1,5 ccm
23. 9.	3,82	4200	60	0,78	3 %	—
28. 9.- 29. 9.						je 1 ccm
30. 9.	3.24	5000	58	0,89	1,1 %	1,5 ccm
1. 10.—2. 10.	2,94	4200	62	1,05	1 %	je 1,5 ccm
3. 10.—4. 10.	2,55	7600	57	1,11	1 %	1,5 ccm
7. 10.	2,41	6000	54	1,12	2,4 %	—
9. 10.	2,20	4800	55	1,25	2 %	—
11. 10.	2,72	5900	55	1,01	1 %	—
14. 10.	2,53	6400	50	0,98	1,4 %	—
						Leber
16. 10.	2,56	4300	51	1,00	1 %	2 ccm
17. 10.—18. 10.	3,88	4600	49	0,62	4,6 %	je 2 ccm
19. 10.-20 10.						je 2 ccm L
21. 10.	4,14	4700	55	0,66	1,2 %	—

Datum	Erythro-cyten	Leuko-cyten	Hgb.	F. I.	Retiku-locyten	Injekt.
23. 10.	4,38	3100	52	0,59	1,5 %	—
25. 10.	3,90	3600	52	0,66	1 %	—
26. 10.	3,76	3200	49	0,65	—	—
30. 10.	3,46	4900	44	0,63	1,4 %	—
1. 11.	3,—	3600	44	0,73	—	—
4. 11.	2,86	4500	42	0,73	—	—
6. 11.	2,78	4500	42	0,75	1 %	—
9. 11.	2,94	4000	45	0,76	0,7 %	—
13. 11.	3,42	5300	49	0,72	—	—
20. 11.	3,68	3500	46	0,62	0,9 %	—
23. 11.	3,88	2500	49	0,62	—	—
30. 11.	4,70	2300	51	0,54	—	—
8. 12.	4,80	4100	52	0,54	—	—

Bei den 3 anderen Kaninchen hat die Lebertherapie grundsätzlich ebenso gewirkt, nur daß das Ansteigen der Erythrocytenwerte sich nicht über eine Woche hin erstreckte, sondern plötzlich einsetzte, d. h. der Höchststand war am Tage nach der ersten Leberspritze schon erreicht. Am nächstfolgenden Tage sank der Blutwert sofort wieder. Bei 2 Kaninchen trat der Tod ein. Bei den beiden anderen Kaninchen stiegen später die Erythrocyten- und Hämoglobin-Werte zum 2. Mal an. Das Blutbild näherte sich dem Anfangswerte. Freilich stieg der Blutfarbstoffgehalt nicht in demselben Maße, sondern blieb hinter dem Anfangswert beträchtlich zurück. Auch rein äußerlich machten die Kaninchen den Eindruck einer völligen Gesundung. Die Leber wirkte also bei 2 von 4 Kaninchen lebensrettend!

Perniciosaähnliches Blutbild, genügende Konstanz der Anämie und spezifisches Ansprechen auf den Leberstoff lassen die experimentelle Oelsäure-Anämie als Testanämie für Leberpräparate durchaus brauchbar erscheinen. Ihre Empfindlichkeit für quantitative Auswertungen scheint in der durchgeführten Form allerdings zu gering zu sein. Um eine Vermehrung der

Erythrocyten um 1—2 Millionen zu erzielen, sind 10 und mehr ccm konzentrierter Leberextrakte notwendig.

Als Grundlage für eine quantitative Testmethode würde sich nach meinen Versuchen folgendes Erythrocytenbild ergeben, wenn ich das Beispielskaninchen als I, das zweite lebende Kaninchen als II und die beiden zu Grunde gegangenen Kaninchen mit III und IV bezeichne:

	I	II	III	IV	
Anfangswert	5,11	4,28	4,26	5,30	Mill.
Vorleberwert	2,56	2,17	2,69	2,33	„
Nachleberwert	4,38	3,16	4,06	3,66	„
Endwert	4,80	4,68	2.57 †	3,66 †	„

Mit Vorleberwert bezeichne ich den letzten Blutwert vor der ersten Leberinjektion. Mit Nachleberwert bezeichne ich den höchsten Blutwert unmittelbar nach der Leberinjektion.

In Prozenten ausgedrückt wäre die Zunahme der Erythrocyten folgende:

I	II	III	IV
71,4 %	46,9 %	87,3 %	44,8 %

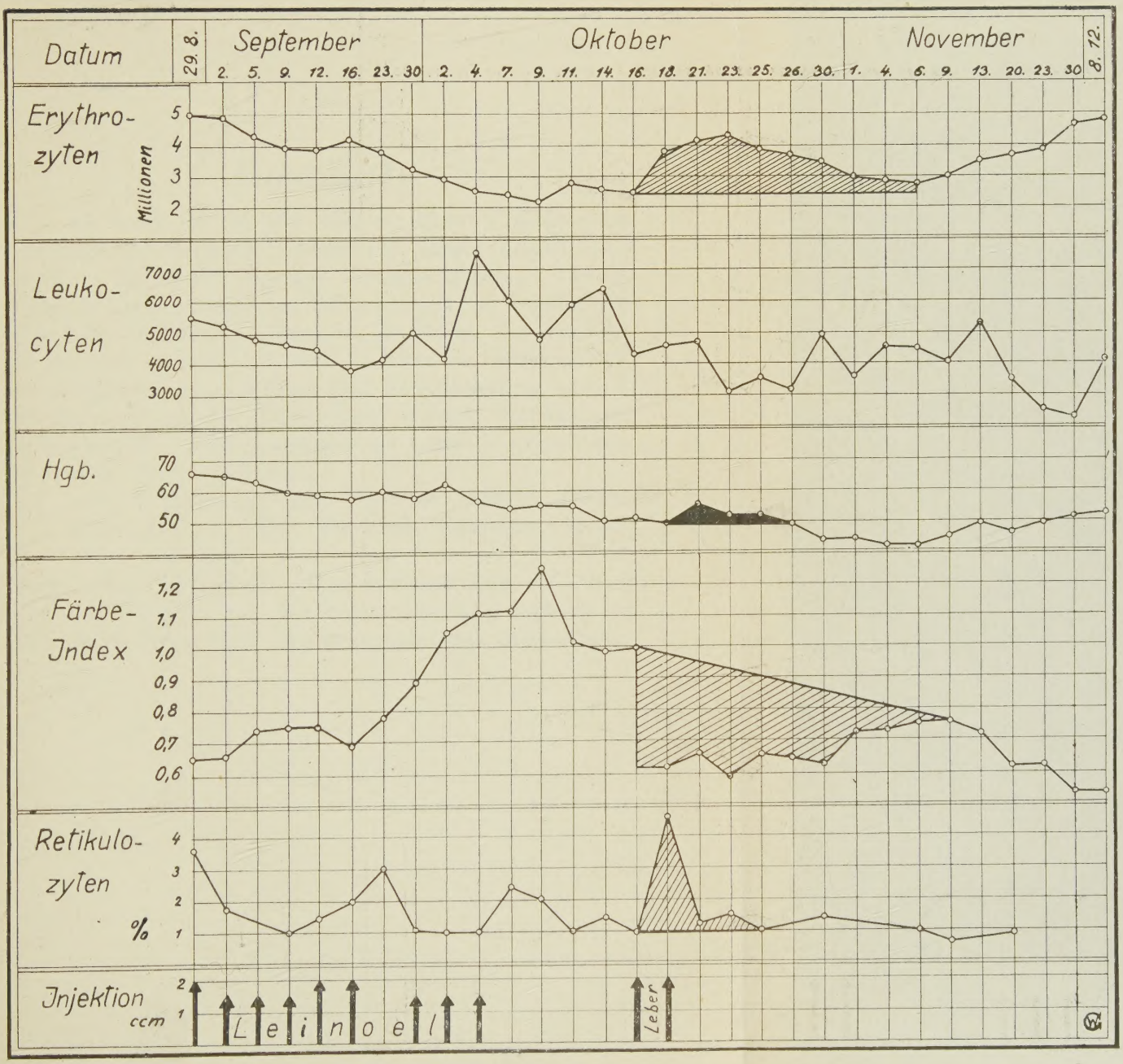
Der Durchschnitt beträgt demnach 62,5 %.

IV. Zusammenfassung.

Durch intramuskuläre Injektion von Acidum linolicum (= Gemisch von Linol- und Linolensäure) läßt sich beim Kaninchen eine perniciosaähnliche Anämie mit hinreichender Konstanz und spezifischer Ansprechbarkeit auf den antianämischen Leberstoff erzeugen.

Literatur.

1. Zipf, K., in A. Fraenkel: Der Weg zur rationellen Therapie, S. 160.
2. Brinkmann, R. und A. v. Szent-Györgyi: Verslagen D. Af-Oerling, Naturkunde 32, Nr. 4, 483.


Datum
29. 8.
September
2. 5. 9. 12. 16. 23. 30
Oktober
2. 4. 7. 9. 11. 14. 16. 18. 21. 23. 25. 26. 30.
November
1. 4. 6. 9. 13. 20. 23. 30
8. 12.
Erythro-
zyten
Millionen
5
4
3
2
Leuko-
cyten
7000
6000
5000
4000
3000
Hgb.
70
60
50
Färbe-
Index
1,2
1,1
1,0
0,9
0,8
0,7
0,6
Retikulo-
zyten
%
4
3
2
1
Injektion
ccm
2
1
Leinoel
Leber

Lebenslauf.

Ich wurde am 20. Mai 1912 zu Berlin-Charlottenburg als Sohn des damaligen Oberlehrers, jetzigen Oberstudiendirektors Dr. Arthur Gottlieb Czwalina, geboren. Ich bin Deutscher und evangelischen Bekenntnisses. Ich besuchte das Friedrichs-Werdersche Gymnasium in Berlin, das Staatliche Gymnasium in Allenstein und die Staatliche Friedrichsschule zu Gumbinnen, wo ich Ostern 1932 die Reifeprüfung bestand. Ich studierte an den Universitäten Rostock, München und Königsberg Pr. Meine akademischen Lehrer in Königsberg waren die Herren Professoren:

Adloff, Bachmann, Biebl, Blohmke, Bürgers, Dörffel, Eisenlohr, Erb, Heiß, Kaufmann, Laubmann, Meyer, Weiß und Zipf.

Ihnen allen, insbesondere Herrn Professor Zipf und Herrn Dr. med. Gottlebe, der sich meiner besonders angenommen hat, sei an dieser Stelle mein besonderer Dank ausgesprochen.